ベプリジルの基礎と臨床

3. 心筋細胞 K^+ チャネルおよびミトコンドリアに対するベプリジルの作用

中谷晴昭* 佐藤俊明*

ベプリジンは治療抵抗性の心房細動に対しても有効性を示すユニークな抗不整脈薬であるが、心筋イオンチャネルに対する作用も非常に多岐にわたり、どのイオンチャネルに対する作用がその抗不整脈効果に最も重要であるかは不明である。ベプリジンは遅延整流 K^+ 電流の速い成分 (I_{Kr}) と遅い成分 (I_{Ks}) の両方に対して $10 \mu M$ 以下の濃度で抑制作用を示す。また、一過性外向き電流 (I_{to}) に対しても治療域の濃度で抑制作用を示した。心房筋細胞活動電位再分極に重要な役割を果たす非常に速い活性化過程をもつ遅延整流 K^+ 電流 (I_{Kur}) を通過させる $Kv1.5$ チャネルに対しても、 $6.6 \mu M$ という IC_{50} 値で抑制作用を示した。副交感神経型心房細動の発生に参与するアセチルコリン感受性 K^+ 電流 ($I_{K,ACh}$) に対しても、 $1 \mu M$ 以下の IC_{50} 値で直接的な抑制作用を示した。ベプリジンは Na^+ 活性化 K^+ 電流 ($I_{K,Na}$) や細胞膜 ATP 感受性 K^+ 電流 ($I_{K,ATP}$) に対しても抑制作用を示し、虚血時の活動電位幅短縮を軽減することが報告されているが、ミトコンドリア ATP 感受性 K^+ ($mitoK_{ATP}$) チャネルに対しては逆に開口作用をもち、虚血・再灌流後の心機能回復を改善させた。このように、ベプリジンはマルチチャネル遮断薬として多くのイオンチャネルに対して複合的な作用を発揮し、これらが合わさって、心房細動停止作用および再発予防作用を示すものと思われる。

(心電図, 2007 ; 27 : 21 ~ 29)

Keywords

- ベプリジル
- K^+ チャネル
- ミトコンドリア
- 活動電位

*千葉大学大学院医学研究院薬理学
(〒260-8670 千葉県千葉市中央区亥鼻1-8-1)

I. はじめに

ベプリジンは狭心症治療薬として開発されたが、その後多くの心筋イオンチャネルに対して抑制作用をもつことが明らかとなり、本邦では抗狭心症薬としてよりは、主に抗不整脈薬として臨床応用されている薬物である。ベプリジルの適応となる不整脈は

From bench to bedside of bepridil

Haruaki Nakaya, Toshiaki Sato

Effects of bepridil on K^+ channels and mitochondria in cardiac cells

図1 心筋活動電位とその再分極に関するK⁺チャネルの分子構造

「他の抗不整脈薬が使用できないか、または無効の場合の頻脈性不整脈(心室性)」とされているため、心室性不整脈が対象となっている。しかしながら、臨床の現場においては今までの膨大な臨床経験から心房細動に非常に有効であることが明らかになっており、治療抵抗性の心房細動に用いられるケースも多く、現在、心房細動への有効性を証明すべく医師主導型の治験が進行中である。

ベプリジルの心筋イオンチャネルに対する作用は非常に多岐にわたっており、どの薬理作用がその抗不整脈効果に重要であるかは不明な点も多い。ここでは心筋イオンチャネル、特にK⁺チャネルに対する作用について述べ、不整脈に対する有効性との関連について考察してみたい。

Ⅱ. 心筋K⁺チャネルに対するベプリジルの作用

1. 心筋活動電位再分極に関する各種K⁺電流とチャネル分子構造

心筋には多くのK⁺チャネルが存在することが知

られている¹⁾。図1にこれまでに明らかとなっている心筋K⁺チャネルの分子構造の模式図と、その心室筋細胞および心房筋細胞の活動電位再分極への関与を示す。心房筋細胞においては、心室筋細胞と同様に活動電位第1相では一過性外向き電流(I_{to})が関与し、活動電位第2相から第3相にかけて遅延整流K⁺電流の速い成分(I_{Kr})および遅い成分(I_{Ks})が関与する。また、活動電位第3相の後半から静止膜電位レベルにかけては内向き整流K⁺電流(I_{K1})が寄与する。心房筋細胞では第2相から第3相にかけての再分極には非常に速い活性化過程を示す遅延整流K⁺電流(I_{Kur})も関与し、副交感神経緊張時にはアセチルコリン感受性K⁺電流($I_{K,ACh}$)も再分極に関与することとなる。この他に虚血時にはATP感受性K⁺電流($I_{K,ATP}$)が活性化し、活動電位幅が短縮する²⁾。また、虚血やジギタリス中毒によって細胞内Na⁺が上昇したときには、Na⁺活性化K⁺電流($I_{K,Na}$)が出現し、活動電位幅短縮に寄与する可能性も示唆されている^{3),4)}。

I_{to} 、 I_{Kr} や I_{Ks} を通過させるK⁺チャネル(それぞれ

図2 COS細胞に発現させたHERGチャネル(左側)およびKvLQT1/IsKチャネル(右側)に対するベプリジルの濃度依存性抑制作用
〔文献7)より引用改変〕

HERGチャネルおよびKvLQT1チャネルとよばれる)は膜6回貫通型のサブユニットが4つ会合し、ポアを形成する。このサブユニットのセグメント4(S4)には陽電荷をもったアミノ酸が規則正しく配列し、電位センサーとしての役割を果たしている。セグメント5(S5)とセグメント6(S6)の間にはヘリックス5(H5)とよばれる部分が存在し、これがイオンを選択的に通過させる部分となる。これらの電位依存性K⁺チャネルのポア成分には付属蛋白(β サブユニット)が加わることが多く、例えばKvLQT1チャネルにはminK(IsK)、HERGチャネルにはMiRP1とよばれる膜1回貫通型の付属蛋白が付随する。I_{K1}、I_{K,ACh}、I_{K,ATP}を通過させるK⁺チャネルは膜2回貫通型のサブユニットが4つ会合し、イオンチャネルが形成されるが、電位センサーに相当する部分はもたず、純粋にK⁺が通過する部分のみからなる単純な構造を示す。内部からMg²⁺あるいはポリアミンが働き、チャネルの内向き整流特性を発現している。Na⁺活性化K⁺チャネルの分子構造はいまだ明らかとなっていない。

2. 遅延整流K⁺電流に対するベプリジルの作用 ヒツジプルキンエ線維を用いた電位固定法実験に

において、ベプリジルは遅延整流K⁺電流を抑制することが報告されている⁵⁾。1990年代になり、I_{Kr}とI_{Ks}が存在することが明らかとなった⁶⁾。これらの遅延整流K⁺電流に対する作用については二つのグループが検討、報告している。Chouabeらは培養細胞にHERGチャネルあるいはKvLQT1/IsKチャネルを発現させ、それに対するベプリジルの抑制作用を検討している⁷⁾。彼らはこれらのチャネル電流に対してそれぞれ0.55 μ M、10.0 μ MというIC₅₀値で抑制効果を示したと報告している(図2)。一方、Wangらはモルモット心室筋細胞において、I_{Kr}およびI_{Ks}をそれぞれ13.2 μ M、6.2 μ MというIC₅₀値で抑制したと報告している⁸⁾。ベプリジルが、これら遅延整流K⁺電流の二成分のうちどちらにより強い抑制作用を示すかは、両研究で一致していないが、どちらの電流も抑制することは明らかである。これらの電流に対する抑制作用は、心房筋細胞における効果的な活動電位幅延長による抗心房細動効果につながる可能性もあるが、その一方で心室筋細胞での活動電位幅延長による過度のQT時間延長およびtorsades de pointesの発生につながる可能性もあり、この点は注意しなければならない。

図3 HEK293細胞に発現させたヒトKv1.5チャネル電流に対するベプリジルの抑制作用

上段にKv1.5チャネル電流に対するベプリジルの抑制作用の実記録を示し、下段にその濃度反応曲線を示してある。ベプリジルは脱分極パルスの最初より後半で抑制作用が顕著となり、いわゆるオープンチャネルブロッカーとして作用しているのがわかる。

〔文献9〕より引用〕

I_{Kur} に対してもベプリジルは抑制作用を示す。この電流は心房筋細胞において活動電位再分極に関与するとされ、Kv1.5という K^+ チャネルを通過する K^+ 電流である。そこでKv1.5チャネルをHEK293細胞に発現させ、ベプリジルの作用を検討した⁹⁾。Ⅲ群抗不整脈薬のE-4031は抑制作用を示さず、アミオダロンも急性効果としては少なくとも抑制作用を示さなかったが、ベプリジルは濃度依存性にKv1.5チャネル電流を抑制し、その IC_{50} 値は $6.6 \mu M$ であった(図3)。また、その抑制作用は、脱分極パルスを与えた直後より時間が経過するにつれ増強しており、いわゆるopen channel blockerとして作用していると思われる。この電流の抑制作用は効果的な心房筋細胞活動電位延長作用につながる可能性を示唆し、ベプリジルの心房細動に対する高い有効性の一部を説明するものかもしれない。

3. 一過性外向き電流に対するベプリジルの作用

I_{to} に対するベプリジルの抑制作用に関しても、ヒ

ツジプルキンエ線維においてすでに報告されている⁵⁾。しかしながら、心室筋細胞におけるこの電流に対しては十分に検討されていない。ラット心室筋細胞において、ベプリジルは濃度依存性に4-アミノピリジン感受性の I_{to} を抑制した(図4)。また、ベプリジルはカレントクランプモードで記録したラット心室筋細胞活動電位幅を $10 \mu M$ の濃度で有意に延長させた(図5)。

I_{to} にも二つの成分が存在することが報告されている¹⁰⁾。すなわち、4-アミノピリジン感受性 K^+ 電流成分の I_{to1} と Ca^{2+} 感受性 Cl^- 電流成分の I_{to2} である。そこで、ウサギ心室筋細胞においてこれら2成分の I_{to} に対するベプリジルの作用を検討してみた。ラット心室筋細胞で観察されたように、4-アミノピリジン感受性である I_{to1} に対しては抑制作用を示したものの、 I_{to2} に対しては明らかな抑制作用を示さなかった。

最近注目されているBrugada症候群は、特徴的な心電図所見を示すとともに特発性心室細動を惹起す

図4 ラット心室筋細胞の一過性外向き電流 (Ca^{2+} 非感受性 I_{to} , I_{to1}) に対するベプリジルの作用

2段パルスプロトコルを用い記録した一過性外向き電流とそれに対するベプリジル (10 μM) と4-アミノピリジン (4-AP, 2 mM) の作用を検討した実験の実記録を上段に示してある。下段はそれらの実験で得られたピーク電流 (左, $I_{to, peak}$) と脱分極パルス最終時点での定常電流 ($I_{to, ss}$) の電圧-電流関係を5個の細胞の平均値 ± 標準誤差として示してある。また、電流値は膜容量で補正して示してある。

図5 ラット心室筋細胞の活動電位に対するベプリジルの作用

0.2Hzで電氣的刺激を与え、カレントクランプモードで記録したラット心室筋細胞活動電位に対するベプリジルの作用を検討した。左側には活動電位とそれに対するベプリジルの作用を検討した代表的実験例を示し、右側には90%再分極の時点での活動電位幅をまとめた ($n = 2 \sim 5$)。ベプリジルは3 μM以上の濃度で活動電位幅を延長させた。

図6 モルモット心房筋細胞におけるアセチルコリン感受性 K^+ 電流($I_{K_{ACh}}$)に対するベプリジルの抑制作用

細胞外からカルバコール(CCh)あるいは細胞内からGTP γ Sを負荷し活性化した $I_{K_{ACh}}$ に対し、ほぼ同じ強さで抑制作用を示した(左側)。また、CChで短縮させた心房筋細胞活動電位に対し、ベプリジル(B)は濃度依存性に活動電位幅短縮を回復させた。
〔文献12)より引用改変〕

るいわゆる「ポックリ病」とよばれるものである。その治療法としては、植込み型除細動器のみが有効であり、薬理的治療法は確立していない。理論的には I_{to} 抑制作用をもつ薬物は心外膜側心室筋細胞の異常な活動電位幅短縮を抑制し、心室細動発生を予防する可能性がある¹¹⁾。一部のBrugada症候群の臨床例においてベプリジルは不整脈抑制作用を示すことが示唆されており、興味深い。

4. アセチルコリン感受性 K^+ 電流に対するベプリジルの作用

$I_{K_{ACh}}$ は結節細胞および心房筋細胞に存在し、副交感神経緊張時の電気生理学的変化に関与する。モルモット心房筋細胞において、細胞外からカルバコールあるいは細胞内から非水解性のGTP類似物質のGTP γ Sを負荷して、アセチルコリン感受性 K^+ 電流

($I_{K_{ACh}}$)を活性化した(図6)。これらの電流に対してベプリジルは濃度依存性に抑制作用を示し、カルバコールおよびGTP γ Sによって活性化した $I_{K_{ACh}}$ に対して、それぞれ0.69 μ M, 0.89 μ Mという IC_{50} 値で抑制した。その強度はほぼ変わらなかったことから、GTP結合蛋白あるいはアセチルコリン感受性 K^+ チャネルそのものに作用して、この電流を抑制したと思われる¹²⁾。また、カルバコールで短縮させた心房筋細胞活動電位幅をベプリジルは濃度依存性に回復させた。このように、ベプリジルは $I_{K_{ACh}}$ を強力に抑制し、副交感神経緊張時の活動電位幅短縮に拮抗して心房細動発生に対して抑制的に働く可能性が示唆された。

心房筋細胞においても I_{K1} が静止膜電位および活動電位幅の規定因子となる。 I_{K1} に対してもベプリジル

の抑制作用が示されている⁵⁾。

5. ATP感受性K⁺電流およびNa⁺活性化K⁺電流に対するベプリジルの作用

ベプリジルはI_{K,ATP}に対しても抑制作用を示す。モルモット心室筋細胞の単一ATP感受性K⁺チャネル電流に対して抑制作用を示し、そのIC₅₀値は6.6 μMと報告されている⁴⁾。細胞膜に存在するATP感受性K⁺チャネルは、膜2回貫通型のKir6.2とよばれる内向き整流K⁺チャネルのポアサブユニットとスルホニル尿素受容体SUR2Aから形成されると考えられている¹³⁾。そこでHEK293細胞にKir6.2とSUR2Aを同時に発現させ、ピナシジルで活性化させたI_{K,ATP}に対してもベプリジルは抑制作用を示した¹⁴⁾。

また、ベプリジルはNa⁺活性化K⁺チャネルに対しても抑制作用を示した¹⁵⁾。モルモット心室筋細胞のインサイドアウトパッチにおいて細胞内側のNa⁺濃度を増加させて活性化させたNa⁺活性化K⁺チャネル電流に対して、ベプリジルは1 μMという低い濃度で開口確率を減少させ抑制した。この作用はCa²⁺チャネル遮断薬であるベラパミルの作用機構に類似しており、このK⁺チャネルに対してフリッカーリングブロックによって不完全な遮断作用を発揮するI群抗不整脈薬とは異なっていた¹⁵⁾。

それではこれらのK⁺チャネルに対するベプリジルの抑制作用はどのような意義をもつのであろうか？ Liらはモルモット灌流心室筋標本において灌流を中止して虚血とし、その時の活動電位幅短縮に対するATP感受性K⁺チャネル遮断薬およびNa⁺活性化K⁺チャネル遮断薬の作用を検討した⁴⁾。その実験結果から、虚血早期にはATP感受性K⁺チャネルの活性化が活動電位幅短縮に寄与し、虚血後期ではNa⁺活性化K⁺チャネルの活性化が主に関与していると結論している。

Ⅲ. ミトコンドリアATP感受性K⁺チャネルに対するベプリジルの作用とその意義

ATP感受性K⁺チャネルは細胞膜ばかりでなくミトコンドリア内膜に存在し、虚血プレコンディショ

ニングやK⁺チャネル開口薬の心筋保護効果の発現に関与しているとされている¹⁶⁾。ミトコンドリアATP感受性K⁺(mitoK_{ATP})チャネルの開口薬であるジアゾキシドは単離心筋細胞においてミトコンドリア内のCa²⁺過負荷を軽減した¹⁷⁾。抗不整脈薬のアミオダロンは細胞膜ATP感受性K⁺(sarcK_{ATP})チャネルに対して抑制作用を示したが、mitoK_{ATP}チャネルには抑制作用を示さなかった¹⁸⁾。一方、ベプリジルはsarcK_{ATP}チャネルに対してアミオダロンと同様に抑制作用を示したものの、mitoK_{ATP}チャネルに対して抑制作用を示さないばかりか、むしろ開口作用を示した(図7)¹⁴⁾。その結果、図8に示すように、虚血・再灌流後の心機能の回復に対して改善作用を示した。

このように、mitoK_{ATP}チャネル活性化は心筋細胞の保護効果につながる可能性があり、虚血時ばかりでなく慢性心房細動における心房筋細胞の障害に対

図7 モルモット心室筋細胞におけるベプリジルによるミトコンドリアATP感受性K⁺チャネル活性化作用

ベプリジル(1 μM, 10 μM)はフラビン蛋白(FP)の自家蛍光を濃度依存性に増強し、酸化反応を起こすことが示された。縦軸はジニトロフェノール(DNP)による酸化反応を100%として示してあり、ベプリジルによる酸化反応はグリソキセピド(GX)で抑制された。〔文献14)より引用改変〕

図8 モルモット冠動脈灌流心室筋標本の発生張力に対するベプリジルの作用

ベプリジル (BP1 μ M, 10 μ M) は濃度依存性に35分虚血後の収縮力回復を改善し、その作用はグリソキセピド (GX) や5-ヒドロキシデカノエート (5HD) で拮抗されたことから、ミトコンドリア ATP 感受性 K^+ チャンネル活性化作用によることが示唆された。

〔文献14〕より引用改変〕

しても保護的に働く可能性があると思われる。

IV. おわりに

抗不整脈薬であるベプリジルの心筋イオンチャンネル、特に K^+ チャンネルに対する作用について述べた。ベプリジルは Na^+ チャンネル、L 型 Ca^{2+} チャンネル、T 型 Ca^{2+} チャンネルに対して抑制作用を示すことが知られている。われわれはそれに加えて過分極誘発内向き電流 (I_f あるいは I_h とよばれる) を通過させる HCN4 チャンネル (hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel) に対しても抑制作用を示すことを観察している (未発表データ)。また、多くの K^+ チャンネルに対して抑制作用をもち、マルチチャンネル遮断薬であることが明らかとなっている。このように、ベプリジルの心筋イオンチャンネルに対する作用はアミオダロンと同様に多彩で複雑である。さらに、ミトコンドリアの ATP 感受性 K^+ チャンネ

ルを活性化するという非常にユニークな作用を併せもつことも明らかとなった。しかしながら、これらの作用のうち、どの作用がベプリジルの心房細動治療薬としての高い有効性に寄与しているかはいまだ不明である。今後、さらなる研究がなされ、本薬の高い有効性の機序が明らかになるとともに、過度の QT 延長に十分注意しながら、治療抵抗性不整脈の治療薬として臨床的に用いられることが望まれる。

謝辞：本研究にご協力頂きました小林智博士、原幸男博士、小倉武彦博士、森勝巳博士、斉藤智亮博士、滝沢太一博士、植村展子博士、玉川正次氏、霊園良恵氏、坂下育美氏に深く感謝いたします。

〔文 献〕

- 1) Nerbonne JM, Kass RS : Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev*, 2005 ; 85 : 1205 ~ 1253
- 2) Saito T, Sato T, Miki T, Seino S, Nakaya H : Role of ATP-sensitive K^+ channels in electrophysiological alterations during myocardial ischemia : a study using Kir6.2-null mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005 ; 288 : H352 ~ H357
- 3) Luk HN, Carmeliet E : Na^+ -activated K^+ current in cardiac cells : rectification, open probability, block and role in digitalis toxicity. *Pflügers Arch*, 1990 ; 416 : 766 ~ 768
- 4) Li Y, Sato T, Arita M : Bepridil blunts the shortening of action potential duration caused by metabolic inhibition via blockade of ATP-sensitive K^+ channels and Na^+ -activated K^+ channels. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999 ; 291 : 562 ~ 568
- 5) Berger F, Borchard U, Hafner D : Effects of the calcium entry blocker bepridil on repolarizing and pacemaker currents in sheep cardiac Purkinje fibers. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1989 ; 339 : 638 ~ 646
- 6) Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK : Two components of cardiac delayed rectifier K^+ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol*, 1990 ; 96 : 195 ~ 215
- 7) Chouabe C, Drici MD, Romey G, Barhanin J, Lazdunski M : HERG and KvLQT1/IsK, the cardiac K^+ channels involved in long QT syndromes, are targets for calcium channel blockers. *Mol Pharmacol*, 1998 ; 54 : 695 ~ 703
- 8) Wang JC, Kiyosue T, Kiriyaama K, Arita M : Bepridil differentially inhibits two delayed rectifier K^+ currents, I_{Kr} and I_{Ks} , in guinea-pig ventricular myocytes. *Br J Pharmacol*, 1999 ; 128 : 1733 ~ 1738
- 9) Kobayashi S, Reien Y, Ogura T, Saito T, Masuda Y, Nakaya H : Inhibitory effect of bepridil on hKv1.5 channel current : comparison with amiodarone and E-4031. *Eur J Pharmacol*, 2001 ; 430 : 149 ~ 157
- 10) Hiraoka M, Kawano S : Calcium-sensitive and insensitive transient outward current in rabbit ventricular myocytes. *J Physiol*, 1989 ; 410 : 187 ~ 212
- 11) Shimizu W, Aiba T, Kamakura S : Mechanisms of disease : current understanding and future challenges in Brugada syndrome. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2005 ; 2 : 408 ~ 414
- 12) Hara Y, Nakaya H : SD-3212, a new class I and IV antiarrhythmic drug : a potent inhibitor of the muscarinic acetylcholine-receptor-operated potassium current in guinea-pig atrial cells. *Br J Pharmacol*, 1995 ; 116 : 2750 ~ 2756
- 13) Suzuki M, Li RA, Miki T, Uemura H, Sakamoto N, Ohmoto-Sekine Y, Tamagawa M, Ogura T, Seino S, Marban E, Nakaya H : Functional roles of cardiac and vascular ATP-sensitive potassium channels clarified by Kir6.2-knockout mice. *Circ Res*, 2001 ; 88 : 570 ~ 577
- 14) Sato T, Costa AD, Saito T, Ogura T, Ishida H, Garlid KD, Nakaya H : Bepridil, an antiarrhythmic drug, opens mitochondrial K_{ATP} channels, blocks sarcolemmal K_{ATP} channels, and confers cardioprotection. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006 ; 316 : 182 ~ 188
- 15) Mori K, Kobayashi S, Saito T, Masuda Y, Nakaya H : Inhibitory effects of class I and IV antiarrhythmic drugs on the Na^+ -activated K^+ channel current in guinea pig ventricular cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1998 ; 358 : 641 ~ 648
- 16) O'Rourke B : Evidence for mitochondrial K^+ channels and their role in cardioprotection. *Circ Res*, 2004 ; 94 : 420 ~ 432
- 17) Ishida H, Hirota Y, Genka C, Nakazawa H, Nakaya H, Sato T : Opening of mitochondrial K_{ATP} channels attenuates the ouabain-induced calcium overload in mitochondria. *Circ Res*, 2001 ; 89 : 856 ~ 858
- 18) Sato T, Takizawa T, Saito T, Kobayashi S, Hara Y, Nakaya H : Amiodarone inhibits sarcolemmal but not mitochondrial K_{ATP} channels in guinea pig ventricular cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003 ; 307 : 955 ~ 960